

Afdeling Algemene Chemie 1985-11-18

RAPPORT 85.112 Pr.nr. 505.2090

Onderwerp: Het bepalen van het ruwvet-
gehalte in diervoeders.

Bijlage: 1

Verzendlijst: directeur, sektorhoofden, direktie VKA, Produktschap
voor Veevoeder (Den Hartog), IVVO (Van der Meer),
Bibliotheek (2x), afdeling Algemene Chemie (4x), Muuse,
De Jong, Projektbeheer, Projektleider, circulatie.

Projekt: Normalisatie/harmonisatie van onderzoekmethoden voor diervoeders

Onderwerp: Het bepalen van het ruwvetgehalte in diervoeders

Bijlage: 1

Doel:

- Nagaan wat de invloed is van zure hydrolyse op het gehalte aan ruwvet, bepaald volgens EEG-methode nr. L 15-4.
- Vaststellen van de herhaalbaarheid van de bepaling van het gehalte aan ruwvet in diervoeders, zowel met als zonder voorafgaande hydrolyse.

Samenvatting:

Bij 19 mengvoeders en 8 enkelvoudige diervoeders van plantaardige oorsprong is de invloed nagegaan van zure hydrolyse op het gehalte aan ruwvet.

Het gehalte aan ruwvet is zowel met als zonder voorafgaande zure hydrolyse bepaald door middel van extractie met petroleumether. Van zowel de methode met hydrolyse als die zonder hydrolyse is uit de verkregen resultaten de herhaalbaarheid berekend.

Conclusie:

1. Bij alle onderzochte mengvoeders en enkelvoudige diervoeders van plantaardige oorsprong (met uitzondering van sesam) wordt, indien voorafgaand aan de extractie met petroleumether een zure hydrolyse wordt uitgevoerd, meer vet gevonden dan wanneer deze hydrolyse achterwege wordt gelaten. De resultaten verkregen na zure hydrolyse zijn significant verschillend van de resultaten verkregen zonder hydrolyse. Het gemiddelde verschil bedraagt +0,67%.
2. Uit dit onderzoek volgt dat het toepassingsgebied van de EEG-methode zodanig geïnterpreteerd dient te worden dat bij alle mengvoeders en enkelvoudige diervoeders van plantaardige oorsprong, voorafgaand aan de extractie met petroleumether, een zure hydrolyse toegepast zou moeten worden.
3. De herhaalbaarheid van de methode zonder zure hydrolyse bedraagt 0,16% en die met voorafgaande hydrolyse 0,45%. In dit laatste geval kan niet worden voldaan aan de in de methode gestelde eis voor de herhaalbaarheid van 0,2%.

Verantwoordelijk	: drs N.G. van der Veen	<i>AD</i>
Samenstellers	: J.J.M. Driessen, H.H.M. van de Worp	
Medewerker	: R.G. Coors	
Statistisch medewerker:	mw G.A. Werdmuller	
Projectleider	: H.H.M. van de Worp	<i>sch</i>

1. Inleiding

Met ingang van 1 juni 1985 is de officiële analysemethode voor de bepaling van het gehalte aan ruwvet in diervoeders op een aantal punten gewijzigd. De belangrijkste wijzigingen zijn:

- a) Wijziging van het extractiemiddel diethylether in petroleumether (40-60).

Uit onderzoek is gebleken, dat bij de extractie met diethylether een aantal verbindingen wordt geëxtraheerd die niet als vet kunnen worden aangemerkt (1). In petroleumether lossen slechts minimale hoeveelheden van deze stoffen op.

- b) Wijziging van het toepassingsgebied voor wat betreft het al dan niet toepassen van zure hydrolyse.

Zure hydrolyse moet volgens de analysemethode toegepast worden bij:

- enkelvoudige diervoeders van plantaardige oorsprong indien bekend is dat het vet zonder voorafgaande hydrolyse niet volledig met petroleumether geëxtraheerd kan worden.
- mengvoeders, welke melkpoeder bevatten of waaruit het vet zonder voorafgaande hydrolyse niet volledig met petroleumether geëxtraheerd kan worden.
- Enkelvoudige diervoeders van dierlijke oorsprong.

Omdat de samenstelling bij mengvoeders sterk kan variëren is het vooraf vaak niet bekend of het vet zonder voorafgaande hydrolyse volledig geëxtraheerd kan worden. Daarom komt het er in de praktijk op neer dat het gehalte aan ruwvet van mengvoeders bepaald wordt na voorafgaande hydrolyse.

Dit onderzoek is erop gericht om na te gaan wat de invloed is van het al dan niet toepassen van zure hydrolyse op het te verkrijgen gehalte aan ruwvet.

Voor zowel de methode met hydrolyse als zonder hydrolyse wordt de herhaalbaarheid vastgesteld.

2. Monstermateriaal

Het onderzoek is uitgevoerd aan 27 handelsmonsters, te weten 19 mengvoeders en 8 enkelvoudige diervoeders van plantaardige oorsprong. Van de mengvoeders is de (door de fabrikant opgegeven) samenstelling bekend.

Alle bij dit onderzoek betrokken monsters zijn geselecteerd uit, op het RIKILT voorhanden zijnde, praktijkmonsters.

3. Methoden van onderzoek

Alle monsters zijn volgens methode EEG nr. L 15-4 in duplo onderzocht. Deze methode (zie bijlage 1) beschrijft twee werkwijzen (A en B).

Bij werkwijze A wordt het monster direct met petroleumether geëxtraheerd.

Bij werkwijze B wordt voor de extractie met petroleumether een zure hydrolyse uitgevoerd.

In dit onderzoek zijn zowel werkwijze A als werkwijze B uitgevoerd.

4. Resultaten en discussie

De resultaten van het onderzoek staan vermeld in tabel 1.

In de 3e en 4e kolom zijn de duplo-resultaten van beide werkwijzen gegeven.

In de 5e kolom is het verschil van de gemiddelden van bovengenoemde resultaten aangegeven. Deze verschillen variëren van -0,02% tot +1,54%.

Bij toepassing van de t-toets op het gemiddelde van verschillen tussen gepaarde waarnemingen blijkt dat de resultaten van werkwijze B significant verschillen van die welke met werkwijze A verkregen zijn.

Het gemiddelde verschil bedraagt +0,67%. Het 95%-betrouwbaarheidsinterval van het gemiddelde verschil loopt van +0,55% tot +0,78%.

Concreet betekent dit, dat indien voorafgaand aan de extractie zure hydrolyse wordt toegepast de resultaten gemiddeld 0,67% hoger zijn dan wanneer geen hydrolyse wordt uitgevoerd.

In tabel 2 wordt een overzicht gegeven van het aantal onderzochte mengvoeders gerangschikt naar opklappend verschil tussen het vetgehalte verkregen volgens werkwijze B en dat verkregen volgens werkwijze A. Dit verschilt varieert van 0,41 tot 1,00%.

Tevens is per monster het percentage maisglutenvoermeel en het percentage enkelvoudige diervoeders van dierlijke oorsprong aangegeven.

Uit de tabel blijkt dat het percentage maisglutenvoermeel sterk kan variëren en dat het verschil in vetgehalte niet evenredig is met de hoeveelheid maisglutenvoermeel in de onderzochte mengvoeders.

Dit is opmerkelijk, daar in de vorige EEG-methode werd gesteld, dat indien aanzienlijke hoeveelheden maisglutenvoermeel in een mengvoeder aanwezig zijn altijd een hydrolyse moet worden toegepast.

Ook de hoeveelheid enkelvoudige diervoeders van dierlijke oorsprong is niet evenredig met dat verschil in vetgehalten.

Van de onderzochte enkelvoudige diervoeders van plantaardige oorsprong blijkt alleen bij het monster sesam (RIKILT-nr. 10136) dat het verschil tussen het vetgehalte van werkwijze B en dat van werkwijze A verwaarloosbaar klein is.

Bij de overige 7 produkten varieert dat verschil van +0,15% voor kokospellets (RIKILT-nr. 5/5/646) tot +1,54% voor maisglutenvoermeel (RIKILT-nr. 10134).

Dit laatste is een bevestiging van het gegeven dat het vet in maisglutenvoermeel niet volledig zonder voorafgaande hydrolyse met petroleumether geëxtraheerd wordt.

Tevens blijkt hieruit dat het toepassingsgebied voor de zure hydrolyse niet beperkt blijft tot de in de methode genoemde produkten maisglutenvoermeel, gist en soja- en aardappeleiwitten, maar dat bij nagenoeg alle enkelvoudige diervoeders van plantaardige oorsprong (het monster sesam uitgezonderd) voorafgaand aan de extractie een zure hydrolyse moet worden toegepast.

Uit de duploverschillen, vermeld in tabel 1, kan afgeleid worden dat de herhaalbaarheid voor werkwijze A (zonder hydrolyse) 0,16% bedraagt en voor werkwijze B (met hydrolyse) 0,45%.

Dit betekent dus dat de herhaalbaarheid van de methode met zure hydrolyse ca. 3 maal zo groot is als die van de methode zonder hydrolyse. In de analysemethode wordt voor de herhaalbaarheid een eis gesteld van 0,2% absoluut voor gehalten tot 5%.

De herhaalbaarheid voor de methode zonder hydrolyse ligt dus ruimschoots beneden deze eis. Indien echter een zure hydrolyse wordt toegepast kan niet aan deze eis worden voldaan.

5. Conclusie:

1. Bij alle onderzochte mengvoeders en enkelvoudige diervoeders van plantaardige oorsprong (met uitzondering van sesam) wordt, indien voorafgaand aan de extractie met petroleumether een zure hydrolyse wordt uitgevoerd, meer vet gevonden dan wanneer deze hydrolyse achterwege wordt gelaten. De resultaten verkregen na zure hydrolyse zijn significant verschillend van de resultaten verkregen zonder hydrolyse. Het gemiddelde verschil bedraagt +0,67%.

2. Uit dit onderzoek volgt dat het toepassingsgebied van de EEG-methode zodanig geïnterpreteerd dient te worden dat bij alle mengvoeders en enkelvoudige diervoeders van plantaardige oorsprong, voorafgaand aan de extractie met petroleumether, een zure hydrolyse toegepast zou moeten worden.
3. De herhaalbaarheid van de methode zonder zure hydrolyse bedraagt 0,16% en die met voorafgaande hydrolyse 0,45%. In dit laatste geval kan niet worden voldaan aan de in de methode gestelde eis voor de herhaalbaarheid van 0,2%.

6. Aanbevelingen

1. Nagaan of zure hydrolyse ook bij andere enkelvoudige diervoeders van plantaardige oorsprong tot hogere resultaten leidt.
2. Nagaan of naast vet nog andere verbindingen bijdragen aan het verschil tussen het analyseresultaat van werkwijze B en dat van werkwijze A.
3. In EEG-verband aan de orde stellen, dat indien een zure hydrolyse wordt toegepast niet voldaan kan worden aan de in de methode gestelde eis voor de herhaalbaarheid.

7. Literatuur

1. Rolf Bassler und Hans-Artur Putzka, Kraftfutter 4/84: Neue EG-Methode zur Bestimmung von Rohfett in Futtermitteln.

Tabel 1. Vergelijkend onderzoek naar het gehalte aan ruwvet in diervoeders verkregen door middel van petroleumetherextractie, zowel met als zonder voorafgaande hydrolyse

RIKILT-nummer	Omschrijving	Analyseresultaten		Verschil tussen de gemiddelden van beide methoden	Duploverschil	
		met hydrolyse	zonder hydrolyse		met hydrolyse	zonder hydrolyse
23761	Rundveebrok	4,42- 4,17	3,49- 3,47	0,82	0,25	0,02
24314	Biggenkorrel	4,22- 4,15	3,55- 3,50	0,66	0,07	0,05
26263	Mais	4,34- 4,01	3,74- 3,72	0,44	0,33	0,02
26451	Rundveebiks	4,19- 4,16	3,68- 3,65	0,51	0,03	0,03
27068	Rundveebrok	4,00- 3,90	3,37- 3,37	0,58	0,10	0,00
27070	Batterij/legkorrels	3,54- 3,36	3,04- 2,95	0,45	0,18	0,09
27557	Rundveebrok	4,01- 3,70	3,09- 3,09	0,77	0,31	0,00
27734	Rundveevoeder	3,40- 3,10	2,40- 2,40	0,85	0,30	0,00
27735	Slachtvarkensvoeder	2,70- 2,55	2,02- 1,90	0,66	0,15	0,12
27737	Volledige varkensbrok	3,56- 3,47	2,95- 2,93	0,58	0,09	0,02
28116	Voll.diervoeder voor biggen	4,20- 4,17	3,45- 3,42	0,75	0,03	0,03
28118	Rundveebrok	5,55- 5,04	4,89- 4,87	0,42	0,51	0,02
29562	Voll.diervoeder voor varkens	2,76- 2,72	2,03- 2,02	0,72	0,04	0,01
29564	Selectbrok	3,92- 3,85	3,11- 3,05	0,80	0,07	0,06
29930	Volledig legmeel	4,99- 4,92	4,40- 4,26	0,63	0,07	0,14
29931	Volledig kuikenmestvoer	7,78- 7,64	7,35- 7,25	0,41	0,14	0,10
30041	Volledig mestkuikenkorrel	11,89-11,78	11,12-11,05	0,75	0,11	0,07
30042	Rundveevoeder	3,97- 3,71	3,16- 3,13	0,70	0,26	0,03
30512	Aanv. diervoeder voor melkvee	6,98- 6,39	5,93- 5,87	0,78	0,59	0,06
10133	Mais	4,37- 4,32	3,68- 3,60	0,70	0,05	0,08
10134	Maisglutenvoermeel	4,79- 4,72	3,25- 3,18	1,54	0,07	0,07
10135	Soja	2,68- 2,46	2,23- 2,12	0,39	0,22	0,11
10136	Sesam	10,38-10,34	10,43-10,32	-0,02	0,04	0,11
10138	Zonnebloempitschroot	2,82- 2,70	1,87- 1,72	0,96	0,12	0,15
10901	Rundveevoeder	4,19- 4,13	3,18- 3,15	1,00	0,06	0,03
5/5/641	Gerst	2,59- 2,43	1,51- 1,49	1,01	0,16	0,02
5/5/646	Kokospellets	10,36-10,03	10,15- 9,94	0,15	0,33	0,21
		n =		27	27	27
		\bar{v} =		0,67		
		$s_{\bar{v}}$ =		0,057		
		s =			0,159	0,057
		r =			0,45	0,16

Tabel 2 Verschil tussen vetgehalte werkwijze B en werkwijze A en de hoeveelheid maisglutenvoermeel en evt. enkelvoudige dier-
voeders van dierlijke oorsprong

RIKILT- nummer	Verschil tussen vet- gehalte werkwijze B en werkwijze A	Hoeveelheid mais- glutenvoermeel (%)	Evt. diervoeders van dierl. oorsprong met daarachter de hoeveelheid
29931	0,41	-	Vetkern (1%)
28118	0,42	25	-
27070	0,45	10	Vetrijk diermeel 3,2%
26451	0,51	32	-
27068	0,58	33	Dierlijk vet 0,3%
27737	0,58	7,5	Vet 1,5%
29930	0,63	5	-
24314	0,66	2,6	Dierlijk vet 2,6%
27735	0,66	10	Magere melkpoeder 4,5%
			Vet 0,7%
30042	0,70	35	Destructieviet 0,6%
29562	0,72	10	Vet 0,8%
28116	0,75	14	Ondermelkpoeder 5%
30041	0,75	-	Diermeel 5%, Vismeel 1%, Vet 8%
27557	0,77	40	-
30512	0,78	18,2	-
29564	0,80	15	-
23761	0,82	25	Vet 0,3%
27734	0,85	31	-
10901	1,00	35	-

BIJLAGE I

„4. BEPALING VAN RUWVET

1. Doel en toepasbaarheid

Het voorschrift beschrijft de methode voor de bepaling van het gehalte aan ruwvet in diervoeder. De methode heeft geen betrekking op het onderzoek van oliehoudende zaden en vruchten voorzien in Verordening nr. 136/66/BEG van de Raad van 22 september 1966.

Afhankelijk van het soort diervoeder moet één van de twee beschreven werkwijzen worden gevolgd.

1.1. *Werkwijze A*

Toepasselijk voor enkelvoudige diervoeders van plantaardige oorsprong, met uitzondering van de voeders waarvan bekend is dat het vet zonder voorafgaande hydrolyse niet volledig met petroleumether geëxtraheerd kan worden. Hiertoe behoren glutenprodukten, gist, soja- en aard-appelwitten. Deze werkwijze is eveneens toepasselijk voor mengvoeders, met uitzondering van deze die melkpoeder bevatten of waaruit het vet zonder voorafgaande hydrolyse niet volledig met petroleumether geëxtraheerd kan worden.

1.2. *Werkwijze B*

Toepasselijk voor enkelvoudige diervoeders van dierlijke oorsprong en voor de onder 1.1 als uitzonderingen voor werkwijze A genoemde veevoeders.

2. Beginsel

2.1. *Werkwijze A*

Het monster wordt geëxtraheerd met petroleumether. Het oplosmiddel wordt afgedestilleerd en het residu gedroogd en gewogen.

2.2. *Werkwijze B*

Het monster wordt bij verhoogde temperatuur met zoutzuur behandeld. Het mengsel wordt afgekoeld en gefiltreerd. Het uitgewassen en gedroogde residu wordt onderworpen aan de bepaling volgens werkwijze A.

3. Reagentia

3.1. Petroleumether, kooktraject: 40 — 60 °C. De broomwaarde moet minder dan 1 zijn en het verdampingsresidu minder dan 2 mg/100 ml.

3.2. Natriumsulfaat, watervrij.

3.3. Zoutzuur 3N.

3.4. Filtermateriaal, bij voorbeeld kiezelgoer, Hyflo-supercel.

4. Apparatuur

4.1. Extractieapparaat. Indien het apparaat werkt met een hevel (Soxhlet) moet de refluxsnelheid zodanig zijn dat ongeveer 10 cyclussen per uur worden doorlopen; bij apparaten zonder hevel moet de refluxsnelheid ongeveer 10 ml per minuut zijn.

4.2. Extractiehulzen die geen in petroleumether oplosbaar materiaal bevatten en een aan de eisen van 4.1 aangepaste porositeit hebben.

4.3. Droogstoof, hetzij een vacuümstoof ingesteld op 75 °C ± 3 °C of een oven met luchtcirculatie ingesteld op 100 °C ± 3 °C.

5. Uitvoering

5.1. *Werkwijze A* (zie punt 8.1)

Weeg 5 g van het monster tot op 1 mg nauwkeurig af, breng dit in een extractiehuls (4.2) en dek het af met onvette watten.

Breng de huls in een extractieapparaat (4.1) en extraheer gedurende zes uur met petroleumether (3.1). Vang het extract op in een van enkele stukjes puimsteen⁽¹⁾ voorzien, gedroogd en getarreed kolfje.

Destilleer het oplosmiddel af en droog het residu vervolgens gedurende anderhalf uur in de droogstoof (4.3). Laat afkoelen in een exsiccator en weeg. Droog nogmaals gedurende 30 minuten om zeker te zijn dat het gewicht van het vet constant is (het gewichtsverlies tussen de twee wegingen moet minder bedragen dan 1 mg).

⁽¹⁾ Neem, indien het vet later kwalitatief moet worden onderzocht, glasparsels in plaats van de stukjes puimsteen.

5.2. Werkwijze B

Weeg 2,5 g van het monster tot op 1 mg nauwkeurig af (zie punt 8.2), breng het in een bekersglas van 400 ml of een erlenmeyerkolf van 300 ml en voeg 100 ml zoutzuur 3N (3.3) en enkele stukjes puimsteen toe. Bedek het bekersglas met een horlogeglas of sluit de erlenmeyerkolf aan op een terugvloeikoeler. Breng het mengsel op een kleine vlam of op een kookplaat net aan de kook en laat het gedurende een uur zachtjes koken. Zorg ervoor dat zich geen materiaal aan de wand vastzet.

Koel het mengsel af en voeg zoveel filtermateriaal (3.4) toe, dat bij het filtreren geen vetverlies optreedt. Filtreer door nat, vetvrij dubbel filtreerpapier. Was het residu met koud water tot dat het waswater neutraal is. Controleer of het filtraat vet bevat. Indien in het filtraat vet aanwezig is, moet het monster vóór de hydrolyse geëxtraheerd worden met petroleumether, volgens werkwijze A.

Breng het dubbelfilter met residu op een horlogeglas en droog het gedurende anderhalf uur in een droogstoof op $100^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$.

Breng het dubbele filter met gedroogd residu in een extractiehuls (4.2) en dek het af met ontvette watten. Breng de huls in een extractieapparaat (4.1) en handel verder als beschreven onder punt 5.1, tweede en derde alinea.

6. Weergave van de resultaten

Druk het gewicht van het residu uit in percenten van het monster.

7. Herhaalbaarheid

Het verschil tussen de resultaten van een bepaling in tweevoud op hetzelfde monster, door dezelfde analytist, mag de volgende waarden niet overschrijden:

- 0,2 %, in absolute waarde, voor gehalten aan ruwvet lager dan 5 %,
- 4,0 % van het hoogste resultaat voor gehalten tussen 5 en 10 %,
- 0,4 % in absolute waarde, voor gehalten boven 10 %.

8. Opmerkingen

- 8.1. Produkten met een hoog vetgehalte, die moeilijk fijn te maken zijn, of waarvan moeilijk een homogeen analysemonster kan worden getrokken, worden als volgt behandeld:

Weeg 20 g van het monster op 1 mg nauwkeurig af en meng dit met 10 g of meer watervrij natriumsulfaat (3.2). Extraheer het mengsel met petroleumether (3.1) zoals beschreven onder punt 5.1. Breng het volume van het extract met petroleumether (3.1) op 500 ml en meng. Breng 50 ml van deze oplossing in een van enkele stukjes puimsteen⁽¹⁾ voorziene, gedroogde en getarreerde kolf. Destilleer het oplosmiddel af, droog het residu en handel verder als beschreven onder punt 5.1, laatste alinea.

Verwijder het oplosmiddel uit het extractieresidu in de huls en maak het residu dan fijn tot een deeltjesgrootte van 1 mm. Breng het residu weer in de huls (geen natriumsulfaat toevoegen) en handel verder als beschreven onder punt 5.1, tweede en derde alinea.

Bereken het vetgehalte in percenten van het monster met de volgende formule:

$$(10 a + b) \times 5$$

waarin:

a = massa in g van het residu na de eerste extractie (aliquoot deel van het extract)

b = massa in g van het residu na de tweede extractie.

- 8.2. Bij vetarme waren kan van 5 g analysemateriaal worden uitgegaan.²⁾

⁽¹⁾ Neem indien het vet later kwalitatief moet worden onderzocht, glasparsels in plaats van de stukjes puimsteen.